

**STUDI PENDAHULUAN  
KARAKTERISASI GEN ALPHA<sub>S1</sub>-CASEIN (CSN1S1)  
PADA KAMBING KACANG**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**MAGFIRAH NUR  
I111 11 017**



**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2015**

**STUDI PENDAHULUAN  
KARAKTERISASI GEN ALPHA<sub>s1</sub>-CASEIN (CSN1S1)  
PADA KAMBING KACANG**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**MAGFIRAH NUR  
I111 11 017**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan  
Universitas Hasanuddin**

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2015**

## PERNYATAAN KEASLIAN

1. Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : MAGFIRAH NUR

NIM : I 111 11 017

menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

- a. Karya Skripsi yang saya tulis adalah asli
  - b. Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini, terutama dalam Bab Hasil dan Pembahasan, tidak asli atau plagiasi maka bersedia dibatalkan dan dikenakan sanksi akademik yang berlaku.
2. Demikian pernyataan keaslian ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Makassar, Agustus 2015

MAGFIRAH NUR

## HALAMAN PENGESAHAN

**Judul Penelitian** : Studi Pendahuluan Karakterisasi Gen Alpha<sub>s1</sub>  
Casein (CSN1S1) pada Kambing Kacang  
**Nama** : Magfirah Nur  
**Nomor Induk Mahasiswa** : I 111 11 017

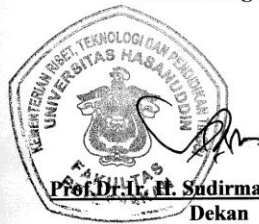
Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:



Dr. Muh. Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si  
Pembimbing Utama



Prof. Dr. Ir. H. Sudirman Baco, M.Sc  
Pembimbing Anggota



Prof. Dr. Ir. H. Sudirman Baco, M.Sc  
Dekan



Prof. Dr. drh. Hj. Ratmawati Malaka, M.Sc  
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus : 20 Agustus 2015

## ABSTRAK

**MAGFIRAH NUR** (I 111 11 017). Studi Pendahuluan Karakterisasi Gen  $\text{Alpha}_{\text{S1}}$ -Casein (CSN1S1) pada Kambing Kacang. Dibawah bimbingan **Muhammad Ihsan A. Dagong** sebagai pembimbing utama dan **Sudirman Baco** sebagai pembimbing anggota.

Gen  $\text{Alpha}_{\text{S1}}$ -Casein merupakan gen yang mengontrol kualitas protein dalam susu. Alel dari gen  $\text{Alpha}_{\text{S1}}$ -Casein dikelompokkan dalam empat tingkatan ekspresi untuk kualitas protein dalam susu yaitu alel tinggi (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, C, H, L dan M), alel menengah (E dan I), alel lemah (D, F dan G) dan alel nol (O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, dan N). Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi gen  $\text{Alpha}_{\text{S1}}$ -Casein pada kambing Kacang dengan mengetahui frekuensi alel dan nilai heterozigositas dengan teknik PCR-RFLP yang menggunakan enzim restriksi *XmnI*. Pada penelitian ini ditemukan 2 alel yaitu alel A 0,77 dan alel B 0,23 yang termasuk dalam kelompok kasein ekspresi tinggi (kualitas protein tinggi). Pada populasi kambing Kacang diperoleh nilai  $H_o$  yaitu 0,2000 dan  $H_e$  yaitu 0,3578 yang berarti keragaman genetik yang masih rendah.

Kata Kunci :  $\text{Alpha}_{\text{S1}}$ -Casein, kambing Kacang, alel, protein

## ABSTRACT

**MAGFIRAH NUR** (I 111 11 017). A preliminary study of Alpha<sub>S1</sub>-Casein (CSN1S1) gene characterization on Kacang goats. Under the Supervision of **Muhammad Ihsan Andi Dagong** as Main Supervisor and **Sudirman Baco** as Co-supervisor.

Alpha<sub>S1</sub>-Casein gene is a gene that controls the quality of the milk protein. Alleles of Alpha<sub>S1</sub>-Casein gene can be grouped into four levels of expression for the quality of the protein in milk, which is high (A, B1, B2, B3, B4, C, H, L and M), intermediate (E and I), weak (D, F and G) and null alleles (O1, O2, and N). The purpose of this study was to characterize Alpha<sub>S1</sub>-Casein gene in Kacang goats by knowing allele frequencies and heterozygosity values by using PCR-RFLP techniques using *XmnI* restriction enzyme. This study found 2 alleles. A allele with frequencies of 0.77, and B allele with 0.23. These two alleles were included in the group of high expression casein (high protein quality). In the Kacang goats population,  $H_o$  values obtained was 0.2000 and  $H_e$  was 0.3578. The results showed that the genetic diversity of Alpha<sub>S1</sub>-Casein gene was low.

Key Words :Alpha<sub>S1</sub>-Casein gene, Kacang goats, Alleles, Protein

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim.....*

*Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Puji syukur kita panjatkan kehadiran Allah SWT, karena rahmat dan hidayah-Nya sehingga Tugas Akhir / Skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi dengan judul “Studi Pendahuluan Karakterisasi Gen  $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein pada Kambing Kacang” Sebagai Salah Satu Syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana pada Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya penulis hanturkan dengan penuh rasa hormat kepada :

1. **Dr. Muh. Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si** selaku Pembimbing utama dan **Prof. Dr. Ir. H. Sudirman Baco, M.Sc** selaku pembimbing Anggota, atas segala bantuan, saran, nasehat serta keikhlasannya untuk memberikan bimbingan , dari awal penelitian sampai selesainya penulisan skripsi ini.
2. Secara khusus penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dengan segenap cinta dan hormat kepada ayah tercinta **H. Tahir** dan ibu **Hj. Nurhayati, S.Pd** atas segala doa, motivasi, dan kasih sayang serta ocehan yang diberikan kepada penulis dan saudara saya **Herliyunita, S.Kep.** yang senantiasa memberikan arahan ketika penulis mengalami masalah.
3. Bapak **Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc** selaku Penasehat Akademik.

4. **Prof. Dr. Ir. H. Sudirman Baco, M.Sc** selaku Dekan Fakultas Peternakan dan seluruh Staf Pegawai Fakultas Peternakan, terima kasih atas segala bantuan kepada penulis selama menjadi mahasiswa.
5. Teman-teman setim penelitian **Mardhatillah, Nurmulyaningsih, Kurniah, Mutmainnah, Mutiara, Evi Harjuna, Awal Reski, Kanda Abduh Qudratullah** dan terkhusus kanda **Nurul Purnomo, S.Pt, M.Si** dan kanda **Trias** di Laboratorium Terpadu atas segala bantuan sarana dan prasarana, ilmu dan doa dari awal penelitian sampai akhir penelitian.
6. Teman-teman seperjuangan di kelas “**PROTEK 011**” dan “**SOLANDEVEN 011**”, tanpa terkecuali terima kasih yang setinggi-tingginya serta penghargaan yang sebesar-besarnya atas segala cinta, pengorbanan, bantuan, pengertian, canda tawa serta kebersamaan selama ini, waktu yang dilalui sungguh merupakan pengalaman hidup yang berharga dan tak mungkin untuk terlupakan dan terima kasih telah memberiku sedikit tempat di hatimu untuk menjadikanku teman dan teriring dengan doa semoga rekan dan temanku sukses selalu.
7. Teman-teman KKN Gel.87 Kec. Lamuru Kel. Lalebata **Zakiyah Muldiya, Winda Sari, Mardiah, Abizar Giffari, Agus Susanto, Reynald** dan **Mushli** terima kasih atas pertemuan singkat tapi untuk persahabatan selamanya
8. Teman-teman IMPS Kooperti UNHAS terkhusus **Arra, Lara, Dede, Nunu, Ika, Ardi, Syaikal, Dedi, Nenna, Ade, Ilham** dan **Feefy** atas doa dan dukungannya
9. Sahabat- sahabat terdekat atas segala bantuannya kepada penulis, yang telah menerima dan mendengar segala curahan hati penulis.



10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu, Terima Kasih atas bantuannya.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan kesalahan. Penulis mengharapkan kritikan dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan skripsi ini.

Makassar,      Agustus 2015

**Magfirah Nur**

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT .....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
PENDAHULUAN.....	1
TINJAUAN PUSTAKA.....	
Produksi Susu Kambing Kacang.....	3
Keragaman Genetik.....	3
Penanda Gen Terciri.....	5
Gen Alpha <sub>S1</sub> -Casein (CSN1S1) .....	6
Analisa Keragaman DNA dengan Teknik PCR-RFLP .....	8
MATERI DAN METODE PENELITIAN .....	
Waktu dan Tempat .....	10
Materi Penelitian .....	10
Tahapan Penelitian .....	11

HASIL DAN PEMBAHASAN .....	
Alel Gen Alpha <sub>S1</sub> -Casein (CSN1S1) .....	15
Karakteristik Gen Alpha <sub>S1</sub> -Casein (CSN1S1) Kambing Kacang dengan Metode PCR-RFLP .....	10
Frekuensi Alel dan Genotipe .....	23
Nilai Heterozigositas .....	24
PENUTUP .....	
Kesimpulan .....	26
Saran .....	26
DAFTAR PUSTAKA .....	28

## DAFTAR TABEL

No.	<i>Teks</i>	Halaman
1.	Sequen primer beserta enzim restriksi endonuklease untuk PCR-RFLP ...	13
2.	Penentuan alel gen $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein .....	21
3.	Alel dan haplotipe gen $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein.....	22
4.	Frekuensi genotipe dan alel pada gen $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein .....	24
5.	Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) gen $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein .....	26

## DAFTAR GAMBAR

No.	<i>Teks</i>	Halaman
1.	Hasil amplifikasi gen $\alpha_{S1}$ -casein dengan primer Cn-O pada mesin PCR .....	16
2.	Letak sequens primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> primer Cn-O .....	17
3.	Hasil amplifikasi gen $\alpha_{S1}$ -casein dengan primer Cn-E pada mesin PCR .....	17
4.	Letak sequens primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> primer Cn-E.....	18
5.	Hasil amplifikasi gen $\alpha_{S1}$ -casein dengan primer Cn-F pada mesin PCR .....	19
6.	Visualisasi PCR-RFLP primer Cn-F.....	20
7.	Letak sequens primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> Cn-F .....	22

## DAFTAR LAMPIRAN

No.	<i>Teks</i>	Halaman
1.	Analisis Genetik Populasi .....	33
2.	Dokumentasi .....	35

## PENDAHULUAN

Kambing merupakan salah satu jenis ternak ruminansia kecil yang telah dikenal secara luas di Indonesia dan dimanfaatkan sebagai ternak penghasil daging, susu, maupun keduanya (dwiguna) dan kulit. Kambing secara umum memiliki beberapa keunggulannya antara lain mampu beradaptasi dalam kondisi yang ekstrim, tahan terhadap beberapa penyakit, cepat berkembang biak dan prolifik (beranak banyak).

Kambing Kacang merupakan sumberdaya ternak lokal di Sulawesi Selatan yang memiliki potensi tinggi sebagai sumber ekonomi masyarakat. Kambing Kacang sebenarnya merupakan kambing tipe pedaging tetapi juga dapat menghasilkan susu. Namun, produksi susunya hanya untuk memenuhi kebutuhan anaknya karena jika dilihat dari segi kuantitas, susu kambing kacang tidak mencukupi untuk diperah.

Dalam memenuhi kebutuhan nutrisi anak kambing Kacang, diperlukan nutrisi tinggi yang diperoleh dari susu khususnya protein. Pada penelitian Alyaqoubi *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa dalam susu kambing Kacang memiliki kadar protein berkisar 4,2%.

Komposisi protein susu dikontrol oleh dua famili gen, yaitu kasein dan whey. Kasein sebagai komponen terbanyak dari protein susu (78 –82%) dikontrol oleh empat gen kasein ( $\alpha_{S1}$ -casein, betha-casein,  $\alpha_{S2}$ -casein, dan kappa-casein) (Threadgill dan Womack, 1990; Rijnkels *et al.*, 1997). Di antara kasein,  $\alpha_{S1}$  mewakili lebih dari 40% dalam susu sapi (Farrell *et al.*, 2004), sedangkan pada susu kambing, itu berkisar 0-25% (Boulanger *et al.*, 1984).

Pada susu kambing,  $\alpha_{s1}$ -casein merupakan variabel penting yang dapat dijadikan tanda pengenal pada kambing (Maga *et al.*, 2012). Keberadaan  $\alpha_{s1}$ -casein ini berhubungan dengan jumlah total protein dan kasein dalam susu kambing (Ambrosoli *et al.*, 1988; Clark and Sherbon, 2000). Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk melihat adanya karakterisasi gen  $\alpha_{s1}$ -casein yang terjadi pada kambing Kacang yang mengatur mengenai kualitas protein susunya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi gen  $\alpha_{s1}$ -casein (CSN1S1) pada kambing Kacang dengan mengetahui frekuensi alel dan nilai heterozigositas.

Kegunaan penelitian ini adalah menambah wawasan ilmu pengetahuan khususnya menambah informasi karakteristik genetik khususnya faktor genetik yang terkait dengan kualitas protein susu pada kambing Kacang.



## TINJAUAN PUSTAKA

### Produksi Susu Kambing Kacang

Produksi susu pada kambing Kacang sangat rendah dengan masa laktasi sekitar 10-12 minggu dan produksi susu kambing Kacang selama 12 minggu laktasi adalah 32 kg atau 0,38 kg per ekor per hari (Stemmer *et al.*, 1998). Penelitian Alyaqoubi *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa sifat kimia dari susu kambing kacang yakni nilai pH berkisar 6,4-6,74. Kandungan protein susu kambing berkisar 4,2% dan kandungan lemaknya 2,43%.

### Keragaman Genetik

Keragaman genetik merupakan variasi gen dalam satu spesies baik diantara populasi – populasi yang terpisah secara geografis maupun di antara individu – individu dalam satu populasi (Indrawan dkk, 2007). Keragaman genetik dalam sebuah populasi organisme terutama dihasilkan oleh tiga mekanisme yaitu mutasi, perpasangan alel secara bebas atau rekombinasi dan migrasi gen dari satu tempat ketempat lain (Elrod dan Stansfield, 2007).

Keragaman genetik suatu spesies merupakan sumberdaya biologi primer di dalam reproduksi sehingga untuk mengembangbiakkan suatu spesies perlu diketahui variasi genetiknya. Keragaman genetik yang diidentifikasi dari frekuensi alel, proporsi lokus polimorfik dan heterosigositas adalah cerminan dari pertumbuhan, kelangsungan hidup, ketahanan terhadap penyakit serta kemampuan dalam mengkonversi pakan dan perubahan lingkungan (Elrod dan Stansfield, 2007).

Genotipe suatu individu menentukan fenotipe yang beragam, sebagian diantaranya akan memberi kontribusi pada kelestarian individu tersebut. Seleksi alam akan bekerja dengan cara memilih individu – individu dengan kelestarian tertinggi dalam populasi. Dengan demikian kombinasi – kombinasi gen yang sesuai cenderung diteruskan atau diturunkan, sedangkan yang kalah adaptif cenderung dihilangkan dari populasi (Elrod dan Stansfield, 2007).

Keragaman genetik merupakan salah satu dasar untuk mengetahui tingkat perubahan nilai keberhasilan seleksi dalam suatu populasi dan dapat pula digunakan dalam penentuan asal-usul ternak (Indrawan dkk. 2007).

Jumlah keragaman genetik dalam populasi ditentukan oleh banyaknya gen yang memiliki lebih dari satu alel (gen polimorfik), dan banyaknya alel pada setiap gen tersebut (Indrawan dkk, 2007). Polimorfik adalah keberadaan dua atau lebih alel pada sebuah lokus dalam populasi (Elrod dan Stansfield, 2007). Polimorfik dapat merupakan hasil mutasi titik, insersi, delesi, dan inversi (Demeke dan Adams, 1994).

#### Penanda DNA Terciri (Marker Assisted Selection)

Salah satu tahapan penting dalam pemuliaan ternak adalah seleksi terhadap keturunan yang membawa sifat-sifat tertentu yang diinginkan. Pemanfaatan penanda molekuler DNA dalam proses seleksi ternak terbukti telah memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan cara-cara konvensional. Penanda molekuler DNA (marker genetik) yang sudah teridentifikasi berasosiasi dengan QTL (*Quantitative Trait Loci*) yang bernilai ekonomis dapat digunakan untuk meningkatkan akurasi, kecepatan dan intensitas seleksi (Van der Werf, 2000).

Pada pemuliaan ternak secara konvensional, seleksi terhadap keturunan yang membawa gen tertentu dilakukan pada level fenotipik pada tiap-tiap generasi. Dari segi pengaruh ekonomi dan waktu, seleksi terhadap ternak yang memiliki keunggulan genetik berdasarkan sifat fisik yang dapat diamati secara langsung adalah sangat tidak efektif dan efisien. Walaupun demikian, metode ini telah banyak digunakan terutama dalam kasus-kasus tertentu seperti diagnosa untuk pembawa penyakit-penyakit genetik tertentu. Kebutuhan untuk pemuliaan ternak telah mendorong perkembangan penanda genetik (*Marker Assisted Selection/MAS*) (Nicholas, 1996).

MAS adalah metode seleksi berdasarkan marka genetik yang didukung oleh data fenotipik merupakan teknologi sistem seleksi dan pemuliaan ternak yang efisien serta akurat untuk mengembangkan bibit unggul, dimana memiliki beberapa keunggulan diantaranya bisa menganalisis langsung pada unsur genetik (DNA) ternak yang bersangkutan sehingga tidak dipengaruhi oleh perubahan lingkungan, informasi diperoleh dari individu yang bersangkutan, dan bukan informasi dari tetua, saudara atau keturunan seperti yang dilakukan pada teknik konvensional, dan dapat dilakukan pada ternak saat usia dini sehingga waktu yang dibutuhkan lebih pendek. MAS memerlukan gen kandidat yang mempunyai pengaruh cukup kuat seperti gen  $\alpha 1$ -casein, dimana  $\alpha 1$ -casein adalah komponen utama dari protein (Susilorini dan Maylinda, 2013).

Penggunaan *Marker Assisted Selection* (MAS) didasarkan pada gagasan bahwa terdapat gen yang memegang peranan utama dan menjadi sasaran atau target secara spesifik dalam seleksi (Van der Werf, 2000). Beberapa sifat yang

dikendalikan oleh gen tunggal seperti warna bulu merupakan pola pewarisan sifat yang sederhana, namun beberapa sifat utamanya sifat produksi yang kompleks (kuantitatif) dikontrol oleh banyak gen (*polygenes*) (Nicholas 1996; Noor 2008). Gen-gen sifat kuantitatif yang memiliki pengaruh besar merupakan gen-gen yang disebut sebagai gen utama (*major gene*) yang terletak pada lokus sifat kuantitatif (QTL) (Barendse *et al.*, 2008).

#### Gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein (CSN1S1)

Kasein merupakan salah satu protein dalam susu yang diketahui jumlahnya paling banyak dalam susu. Polimorfisme gen kasein susu telah dihubungkan dengan perbedaan komposisi susu, prosesing dan kualitas (Mclean, 1987) dan juga dengan karakteristik produksi (Lien *et al.*, 2001).

Gen alpha<sub>S1</sub>-casein pada kambing merupakan contoh yang sangat baik untuk menunjukkan bahwa sebagian besar dari keragaman yang diamati pada kandungan alpha<sub>S1</sub>-casein dalam susu kambing adalah karena adanya alel autosomal pada lokus struktural tunggal (Ramunno *et al.*, 2005).

Gen CSN1S1 tersebar cukup besar pada unit transkripsi 16,7 kb dan terdiri dari 19 ekson yang variasi panjangnya dari 24 bp menjadi 358 bp. Dalam dua dekade terakhir beberapa peneliti melaporkan bahwa pada lokus alpha<sub>S1</sub>-casein bertanggung jawab atas variasi individu yang diamati dalam kasein untuk susu kambing (Martin *et al.*, 1999). Lokus CSN1S1 ditandai dengan tujuh alel terkait dengan setidaknya empat tingkat kuantitatif protein yang sesuai yaitu kuat (A, B, C); menengah (E); lemah (D, F) dan nihil (O) (Grosclaude *et al.*, 1987).

Protein yang disintesis melalui ekspresi gen  $\alpha_{S1}$ -casein terdiri dari 199 residu asam amino. Varian A, B, C, dan E hanya berbeda dalam substitusi asam amino, sedangkan varian D dan F hasil dari penghapusan 11 dan 37 amino asam, masing-masing (Brignon *et al.*, 1989; Brignon *et al.*, 1990). Menurut Grosclaude *et al.*, (1987), alel O, ditandai untuk produksi  $\alpha_{S1}$ -Cn nol dalam susu, merupakan hasil dari penghapusan sekitar 8 kilobases (kb) di wilayah 3' gen ini (Martin *et al.*, 1999).

Pada penelitian Susilorini dan Maylinda (2013) yang menggunakan sampel darah kambing Peranakan Etawa (PE) dengan marka gen  $\alpha_{S1}$ -casein mendapatkan hasil tiga varian genotip yaitu EE, EF dan FF dan terdapat hubungan yang sangat nyata antara genotip dengan produksi susu tertinggi. Sedangkan pada penelitian Aditama (2014) yang menyatakan bahwa secara genetik kambing Peranakan Etawa (PE) di Jawa Tengah diduga memiliki kandungan  $\alpha_{S1}$ -casein tinggi dalam susu segarnya dengan alel A dan B.

Seperti diulas oleh Moioli *et al.*, (2007), kandungan protein susu kambing dipengaruhi oleh polimorfisme gen  $\alpha_{S1}$ -casein. Efek polimorfisme dalam lokus CSN1S1 telah diselidiki, dan frekuensi alel telah ditentukan di beberapa negara.

#### Analisa Keragaman DNA dengan Teknik PCR-RFLP

PCR adalah suatu reaksi invitro untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer, dan dilakukan di dalam thermocycler. Panjang target DNA berkisar antara puluhan sampai ribuan nukleotida yang posisinya diapit

sepasang primer. Primer yang berada sebelum target disebut primer forward dan primer yang berada setelah target disebut primer reverse (Muladno, 2002).

Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (postextension). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Produk PCR dapat diidentifikasi melalui ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Metode ini terdiri atas menginjeksi DNA ke dalam gel agarosa dan menyatukan gel tersebut dengan listrik. Hasilnya untai DNA kecil pindah dengan cepat dan untai yang besar diantara gel menunjukkan hasil positif (Yusuf, 2010).

RFLP merupakan teknik yang banyak digunakan dalam mempelajari variasi inter maupun antar spesies dengan memanfaatkan enzim restriksi. Teknik ini dapat mendeteksi adanya variasi genetik dengan akurat. Posisi dan besarnya variasi dapat diperkirakan dengan tepat (Sutarno, 1999).

PCR - RFLP merupakan teknik PCR yang dikembangkan untuk memvisualisasikan perbedaan runutan nukleotida DNA menggunakan enzim restriksi (Park *et al.*, 1995). Enzim restriksi bersifat spesifik, yaitu suatu jenis enzim hanya akan memotong runutan nukleotida yang dikenalnya (situs restriksi). Profil fragmen hasil pemotongan menggambarkan variasi runutan nukleotida situs restriksi. Dengan kata lain, perbedaan runutan nukleotida pada setiap fragmen DNA

akan menghasilkan pola pemotongan yang berbeda. Fragmen DNA hasil pemotongan tersebut dapat dipisahkan dengan elektroforesis melalui matriks gel yang berbentuk pita - pita dan divisualisasikan dengan gel dokumentasi. Berdasarkan perbedaan panjang pita yang dihasilkan dapat diketahui variasi genetik antar individu dan populasi (Acharya *et al.*, 2002).

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Juni 2015 di Kandang Kambing Ternak Potong Fakultas Peternakan untuk pengambilan sampel darah dan untuk tahapan ekstraksi DNA, PCR dan analisis data dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Terpadu, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

### Materi Penelitian

Bahan utama dari penelitian ini adalah sampel darah kambing Kacang betina yang laktasi yang berjumlah 30 ekor dari Kandang Kambing Ternak Potong Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Bahan pendukung antara lain : Primer gen  $\alpha_{S1}$ -casein (Primer Cn-O untuk alel O, Cn-F untuk alel F dan Cn-E untuk alel E), enzim restriksi *Xmn*I, bahan ekstraksi DNA (lysis buffer, proteinase K, wash buffer I, wash buffer II, elution buffer, ethanol absolute 96%), bahan PCR (dNTP mix, enzim Taq DNA Polymerase, Buffer, dan H<sub>2</sub>O), Buffer Tris Borat EDTA (TBE), gel Agarose, Ethidium Bromida (EtBr), 100 bp marker DNA, DNA Loading Dye dan tissue.

Alat yang digunakan yaitu : Kit DNA ekstraksi (*Thermo Scientific*), venoject, tabung vakutainer, mesin PCR, centrifuge, alat pendingin, tabung eppendorf besar kecil (0,2 ml; 0,5 ml; dan 1,5 ml) gel dokumentasi, mikropipet, tip, rak tabung, elektroforesis, autoclave, timbangan dan sarung tangan.



## Tahapan Penelitian

### Koleksi Sampel

Sampel darah diperoleh dari 30 ekor kambing Kacang betina dari Kandang Kambing Ternak Potong Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Pengambilan darah melalui *vena jugularis* ditampung pada tabung vacutainer telah berisi antikoagulan EDTA untuk mencegah penggumpalan darah.

### Ekstraksi DNA

DNA diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan Kit DNA ekstraksi (Genjet Genomic DNA Extraction *Thermo Scientific*) dengan mengikuti protocol ekstraksi yang disediakan. Sebanyak 200 µl sampel darah dilisis dengan menambah 400 µl larutan buffer (*lysis buffer*), 20 µl proteinaseK (10 mg/ml), kemudian dicampur dan diinkubasi pada suhu 56°C selama 60 menit pada *waterbath shaker*. Setelah inkubasi larutan, ditambahkan 200 µl *ethanol absolute* 96% dan disentrifugasi 6.000 x g selama 1 menit.

Pemurnian DNA dilakukan menggunakan *spin column* dengan penambahan 500 µl larutan pencuci *wash buffer I* yang kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 8.000 x g selama 1 menit. Setelah supernatnya dibuang, DNA kemudian dicuci lagi dengan 500 µl *wash buffer II* dan disentrifugasi pada 12.000 x g selama 3 menit. Setelah supernatnya dibuang, DNA kemudian dilarutkan dalam 200 µl *elution buffer* dan disentrifugasi pada 8.000 x g untuk selanjutnya DNA hasil ekstraksi ditampung dan disimpan pada suhu -20°C.

## Teknik PCR-RFLP

Komposisi reaksi PCR dikondisikan pada volume reaksi 25 µl yang terdiri atas 100 ng DNA, 0.25 mM masing-masing primer CSN1S1 yang terdiri atas Cn-F; Cn-E dan Cn-O , 150 µM dNTP, 2.5 mM Mg<sup>2+</sup>, 0.5 Taq DNA polymerase dan 1x buffer. Kondisi mesin PCR dimulai dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 4 menit, diikuti dengan 35 siklus berikutnya masing-masing denaturasi 94°C selama 45 detik, dengan suhu annealing yaitu : 59°C untuk alel O; 61°C untuk alel F; dan 63°C untuk alel E; selama 45 detik, yang dilanjutkan dengan ekstensi : 72°C selama 1 menit, yang kemudian diakhiri dengan satu siklus ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit dengan menggunakan mesin PCR. Produk PCR kemudian dielektroforesis pada gel agarose 1.5 % dengan buffer 1x TBE (89 mM Tris, 89 mM asam borat, 2 mM Na<sup>2</sup>EDTA) yang mengandung 100 ng/ml *ethidium bromide*. Kemudian divisualisasi pada UV transiluminator (*gel documentation system*).

Produk PCR yang diperoleh dari masing-masing gen target kemudian dianalisis menggunakan RFLP melalui pemotongan menggunakan enzim restriksi yang memiliki situs pemotongan pada gen CSN1S1/*Xmn*I. Lokus ditentukan dengan cara menginterpretasi pita yang berbentuk paling jauh migrasinya ke kutub anoda sebagai lokus 1, lokus 2, dan seterusnya. Cara yang sama dipakai juga untuk menentukan alel, yaitu pita yang bermigrasi paling jauh pada suatu lokus ditandai dengan alel “f”, berikutnya alel “o” dan seterusnya.

Tabel 1. Sequen primer beserta enzim restriksi endonuklease untuk PCR-RFLP

Primer	Sequence DNA (5'→3')	Alel	Enzim Restriksi	Sumber
Cn-F (F) Cn-F (R)	TGGGTTGTTTCCTTCTAATG CCTGAGCACTATTGGGAAC	F	<i>Xmn</i> I	Soares <i>et al.</i> , 2009
Cn-O (F) Cn-O (R)	GAAAGGGATGCCATGATAGAT G	O		
Cn-E (F) Cn-E (R)	TTGGACTTGCCACAAGCTAGC TCAAAACATGCAGCATAACTA AC AGTCAGTGGCCTTTATACCAG	E		

#### Analisis Data

Keragaman genotipe tiap-tiap individu dapat ditentukan dari pita-pita DNA gen yang ditemukan. Masing-masing sampel dibandingkan berdasarkan ukuran (marker) yang sama dan dihitung frekuensi alelnya. Frekuensi alel bisa dihitung dengan menggunakan rumus Nei dan Kumar (2000) :

$$X_i = \frac{(2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij})}{2n}$$

Keterangan :

$X_i$  = Frekuensi alel ke -i

$n_{ii}$  = jumlah sampel yang bergenotif ii (homozigot)

$n_{ij}$  = jumlah sampel yang bergenotif ij (heterozigot)

$n$  = jumlah sampel

Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) berdasarkan rumus heterozigositas Nei dan dihitung dengan menggunakan *software* PopGene32 versi 1.31 (Yeh *et al.*, 1999).

$$H_o = \sum_k^s w_k \sum_{i \neq j}^q X_{kij} \qquad H_e = 1 - \sum_k^s w_k \sum_i^q x_{ki}^2$$

Keterangan:

$H_o$  = heterozigositas pengamatan di antara populasi,

$H_e$  = heterozigositas harapan di antara populasi,

$W_k$  = ukuran relatif populasi,

$X_{kij}$  ( $i \neq j$ ) = frekuensi  $A_i A_j$  pada populasi ke- $k$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

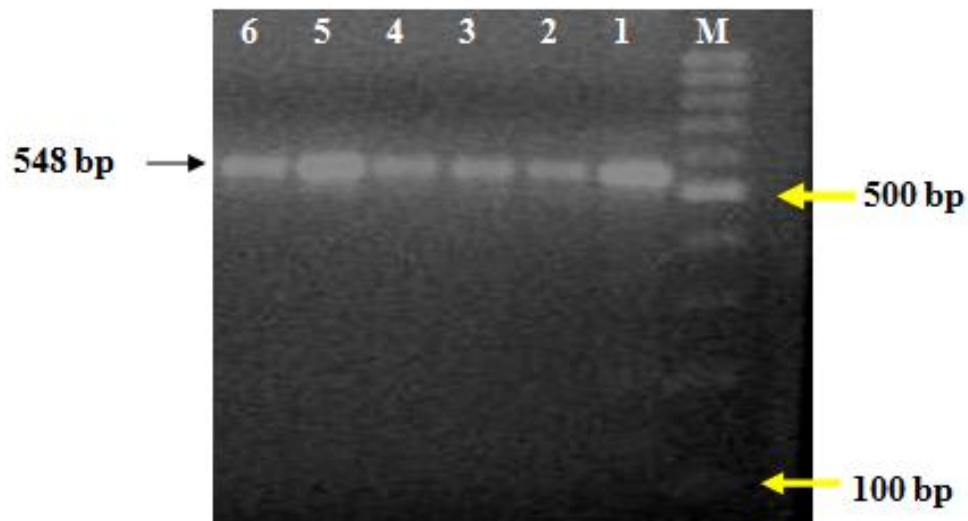
### Alel Gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein (CSN1S1)

Alel gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein yang diperoleh dari 30 sampel kambing Kacang hasil PCR - RFLP menggunakan tiga jenis primer yang berbeda (Cn-O, Cn-E dan Cn-F) yakni alel A dan alel B yang digolongkan ke dalam tingkatan alel tinggi “*high alleles*”. Hasil yang diperoleh seperti yang telah dilakukan Aditama (2014) bahwa  $\alpha_{S1}$ -kasein dengan alel yang memiliki sifat ekspresi yang tinggi akan  $\alpha_{S1}$ -kasein seperti A dan B banyak ditemukan pada kambing PE di Jawa Tengah yang dianalisis. Hal ini didukung pendapat Grosclaude *et al.*, (1987); Moiola *et al.*, (1998); Rando *et al.*, (2000); Bevilacqua *et al.*, (2002); Ramunno *et al.*, (2005); Sacchi *et al.*, (2005); Sztankoova *et al.*, (2007) bahwa alel dari lokus CSN1S1 pada kambing dikelompokkan dalam 4 tingkatan untuk kualitas protein dalam susu; alel tinggi “*high alleles*” (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, C, H, L dan M), alel menengah “*intermediate alleles*” (E dan I), alel lemah “*low alleles*” (D, F dan G) dan alel nol “*null alleles*” (O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, dan N).

### Karakteristik Gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein (CSN1S1) Kambing Kacang dengan Metode PCR-RFLP

Hasil amplifikasi gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein pada kambing Kacang yang dianalisis dengan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dari tiga jenis primer yang berbeda yaitu primer Cn-O, primer Cn-E dan primer Cn-F. Gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein

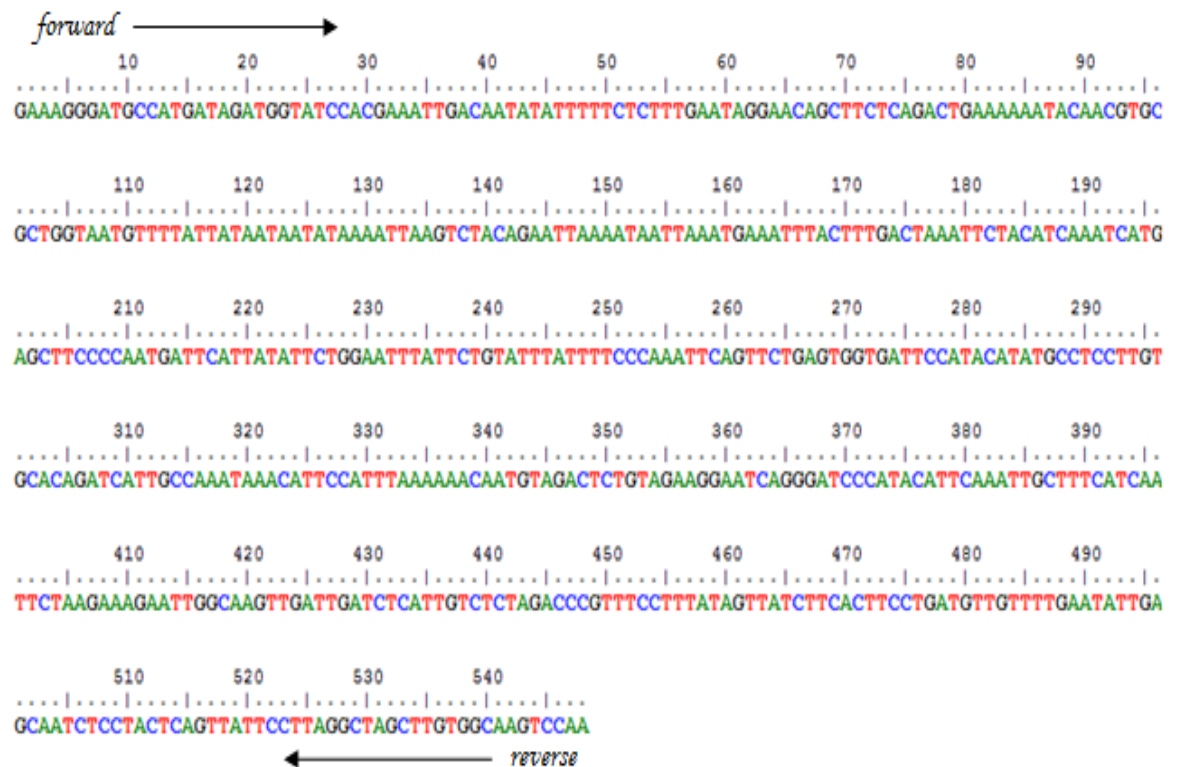
dengan primer Cn-O divisualisasi pada gel agarose 2% dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil amplifikasi Gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein dengan primer Cn-O pada mesin PCR, M: marker 100 bp; 1-6: sampel kambing Kacang dari Unit Kandang Kambing Ternak Potong Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin; bp : *base pair*.

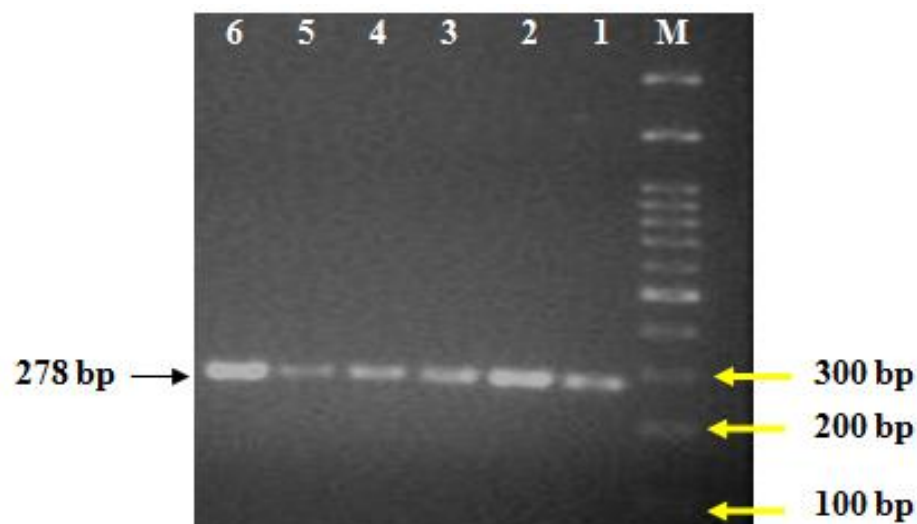
Pada penelitian ini panjang fragmen hasil amplifikasi primer Cn-O yang diperoleh yaitu 548 bp yang menandakan adanya alel A. Hal ini sesuai yang dikatakan Soares *et al.*, (2009) bahwa untuk mengidentifikasi alel O<sub>1</sub>, memungkinkan amplifikasi dua fragmen dengan ukuran yang berbeda. Fragmen terbesar dengan 548 bp diasosiasikan dengan alel A dan fragmen terkecil 304 bp dengan alel O<sub>1</sub>. Semua sampel yang diuji tidak menunjukkan adanya deleksi sehingga tidak ditemukan fragmen terkecil yaitu 304 bp yang mengalami deleksi 8 kb bersama dengan 20 nukleotida yang menunjukkan alel O<sub>1</sub>.

Letak sequens DNA gen alpha<sub>S1</sub>-casein dari primer Cn-O yang dipakai dapat dilihat pada Gambar 2.



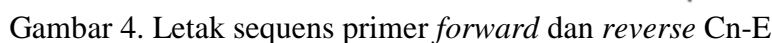
Gambar 2. Letak sequens primer *forward* dan *reverse* Cn-O

Amplifikasi gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein dengan primer Cn-E divisualisasi pada gel agarose 2% dapat dilihat pada Gambar 3.



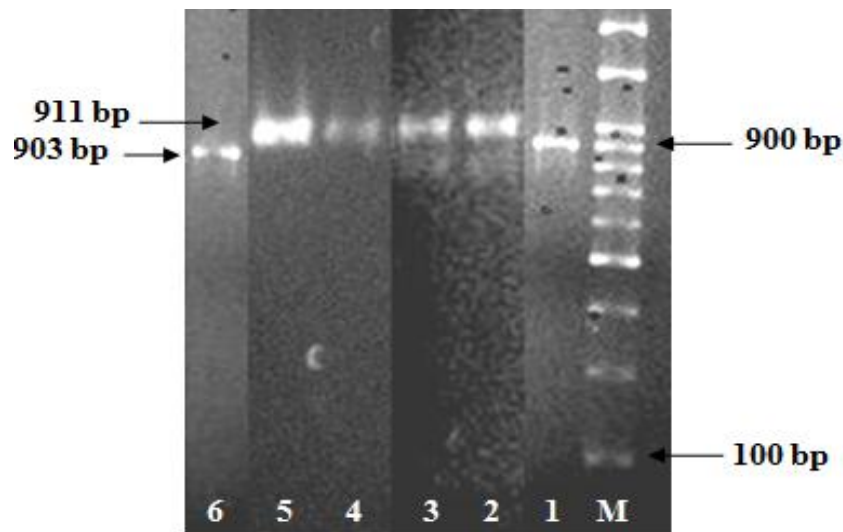
Gambar 3. Hasil amplifikasi Gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein dengan primer Cn-E pada mesin PCR, M: marker 100 bp; 1-6: sampel kambing Kacang dari Unit Kandang Kambing Ternak Potong Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin; bp : *base pair*.

Letak sequens DNA gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein dari primer Cn-O yang dipakai dapat dilihat pada Gambar 4.



18





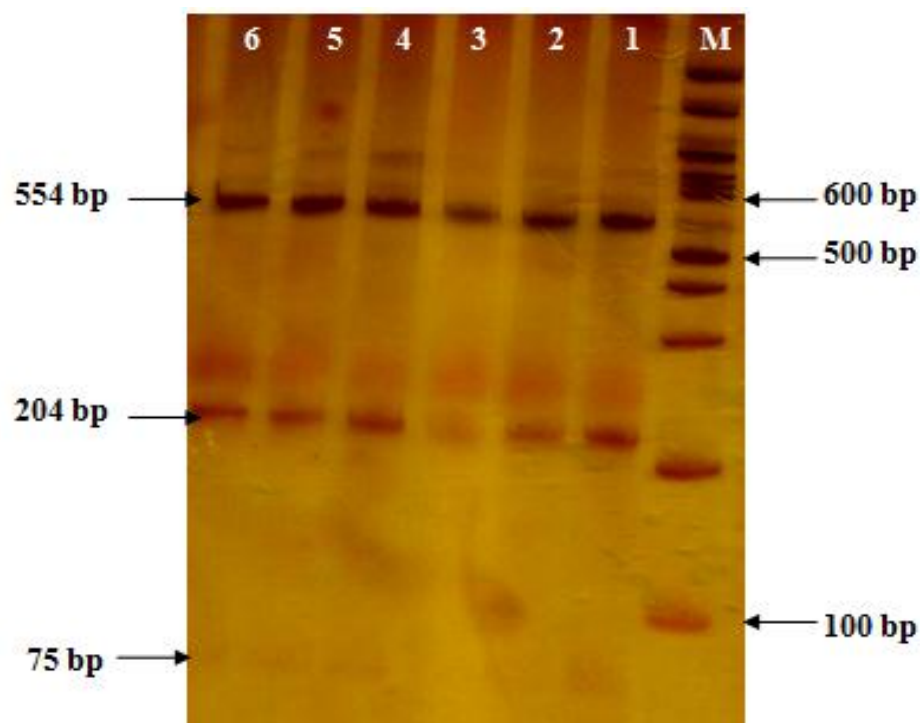
Gambar 5. Hasil amplifikasi Gen Alpha<sub>s1</sub>-Casein dengan primer Cn-F pada mesin PCR, M: marker 100 bp; lajur 1 dan 6: genotipe homozigot karena tidak adanya insersi (II); lajur 2 dan 3: genotipe heterozigot karena ada dan kurangnya insersi (I<sup>+</sup>I); lajur 4 dan 5: genotipe homozigot karena adanya insersi (I<sup>+</sup>I<sup>+</sup>).

Pada penelitian ini diperoleh panjang fragmen dari hasil PCR primer Cn-F lebih besar dari 900 bp dan hanya terjadi sedikit insersi di intron 9. Insersi yang terjadi ada dua yakni insersi 11 bp dan yang lain 3 bp. Fragmen dengan panjang 903 bp didenotasikan dengan (I) dan fragmen dengan panjang 911 bp didenotasikan (I<sup>+</sup>). Hal ini dikemukakan pula Soares *et al.*, (2009) bahwa reaksi PCR menggunakan primer Cn-F (F) dan Cn-F (R) memperoleh fragmen dengan ukuran lebih besar 900 bp.

Identifikasi karakteristik gen Alpha<sub>s1</sub>-Casein telah dilakukan dengan metode PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *XmnI* menghasilkan 2 variasi alel yaitu alel A dan alel B yang digolongkan ekspresi alel tinggi “*high alleles*”. Hal ini dapat diketahui setelah melihat hasil dari ketiga primer gen Alpha<sub>s1</sub>-Casein yang digunakan. Pada primer Cn-O diperoleh panjang fragmen 548 bp yang berarti kemungkinan alel A karena tidak ditemukan panjang fragmen 304 yang diindikasikan

alel O<sub>1</sub>. Seperti halnya primer Cn-O, primer Cn-E juga hanya ditemukan satu panjang fragmen yaitu 278 bp yang diasosiasikan alel B.

Untuk meyakini bahwa sampel kambing Kacang yang digunakan memiliki alel A dan alel B, hasil PCR primer Cn-F harus direstriksi dengan enzim *Xmn*I. Berikut hasil PCR-RFLP dari primer Cn-F pada gel akrilamida 8% dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Visualisasi PCR-RFLP primer Cn-F, M: marker 100 bp; lajur 1 - 6: homozigot karena tidak terjadi delesi C (D'D')

Hasil yang diperoleh setelah pemotongan dengan enzim restriksi *Xmn*I yaitu 3 fragmen dengan ukuran 75, 204 dan 554 bp. Ketiga panjang fragmen yang diperoleh menunjukkan bahwa tidak terjadi delesi basa sitosin (C). Kondisi tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Soares *et al.*, (2009) bahwa amplifikasi semua fragmen dengan atau tanpa insersi, dipotong dengan enzim *Xmn*I. Daerah amplifikasi menunjukkan adanya empat situs pemotongan

menghasilkan 5 fragmen dengan ukuran 20, 50, 75, 204 dan 554 bp ketika basa C hadir dan tiga situs restriksi saat nukleotida C terdelesi sehingga fragmen 553 bp dan 75 bp membentuk fragmen tunggal 628 bp karena hilangnya satu situs restriksi.

Ketika adanya basa sitosin (C) hadir dapat disimbolkan dengan  $D^-$  sedangkan  $D^+$  berarti adanya delesi basa C. Pada Gambar 6, yang ada hanya homozigot  $D^-D^-$  karena tidak terjadi delesi basa C dan tidak ditemukannya delesi basa C ( $D^+D^+$ ). Sehingga, dengan menggabungkan data sebelumnya, tidak ditemukannya haplotipe  $D^+I^+$  yang menandakan adanya alel F.

Penentuan alel pada gen  $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein dapat ditentukan setelah pemotongan dengan enzim *XmnI* seperti pada Tabel 2:

Tabel 2. Penentuan alel gen  $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein

Hasil PCR	Hasil PCR-RFLP	Haplotipe	Alel
$I^+I^+$	$D^+$	$D^+I^+$	F
	$D^-$	$D^-I^+$	E atau B
$I^+I^-$	$D^+$	1. $D^+I^+$	1. F
		2. $D^+I^-$	2. $O^2$ , D, G atau alel baru
	$D^-$	1. $D^-I^+$	1. E atau B
		2. $D^-I^-$	2. A atau $O^1$
$I^-I^-$	$D^+$	$D^+I^-$	$O^2$ , D, G atau alel baru
	$D^-$	$D^-I^-$	A atau $O^1$

Sumber : 1. Ramunno *et al.*, (2000)

2. Soares *et al.*, (2009)

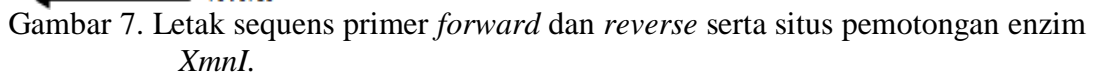
Melihat data pada Tabel 2 di atas maka haplotipe yang diperoleh pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini

Tabel 3. Alel dan haplotipe gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein

Alel	Frekuensi (N)	Haplotipe	Frekuensi (N)
D <sup>+</sup>	0	D <sup>+</sup> I <sup>+</sup>	0
D <sup>-</sup>	1 (30)	D <sup>+</sup> I <sup>-</sup>	0
I <sup>+</sup>	0,33 (10)	D <sup>-</sup> I <sup>+</sup>	0,33 (10)
I <sup>-</sup>	0,67 (20)	D <sup>-</sup> I <sup>-</sup>	0,67 (20)

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa alel yang ditemukan pada primer F yaitu D<sup>-</sup> sebanyak 30 dengan nilai frekuensi 1, sedang pada I<sup>+</sup> sebanyak 10 dari total keseluruhan dengan nilai 0,33 dan I<sup>-</sup> sebanyak 20 dari total keseluruhan dengan nilai 0,67. Sedang haplotipe yang diperoleh hanya dua yaitu D<sup>-</sup>I<sup>+</sup> sebanyak 10 dengan nilai frekuensi 0,33 dan haplotipe D<sup>-</sup>I<sup>-</sup> sebanyak 20 dengan nilai frekuensi 0,67.

Letak sequence DNA gen Alpha<sub>S1</sub>-Casein dari primer Cn-F yang dipakai dengan menggunakan enzim XmnI dapat dilihat pada Gambar 7.



23

Pendeteksian alel E sama halnya dengan identifikasi alel O dengan melihat panjang fragmen pada hasil PCR primer Cn-E. Panjang fragmen yang ditemukan yakni 278 bp yang diasosiasikan sebagai alel B dan tidak ditemukan fragmen 735 bp untuk alel E, sehingga tidak ditemukan ada kambing Kacang yang membawa alel E. Memastikan hal tersebut dilihat pula insersi yang terjadi pada primer Cn-F dan hasilnya menunjukkan sampel yang diuji mengalami insersi ( $I^+$ ), terdapat basa C ( $D^-$ ) seperti pada Tabel 3. Kombinasi haplotipe  $DI^+$  yang menandakan alel B. Hal ini sesuai dengan pendapat Ramunno *et al.*, (2000) bahwa fragmen yang berisi insersi LINE ( $CSN1S1^E$ ) juga dievaluasi berkaitan dengan potensi mutasi. Diamati bahwa semua fragmen menunjukkan insersi di intron 9; namun, tidak memperlihatkan delesi pada basa C ( $DI^+$ ). Haplotipe ini dikaitkan dengan alel E dan B. Namun, setelah diuji dengan primer Cn-E tidak ditemukan adanya alel E. Sehingga, dari serangkaian identifikasi gen  $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein, alel yang ditemukan hanya alel A dan B.

#### Frekuensi Alel dan Genotipe

Hasil analisis frekuensi genotip dan alel pada gen  $\text{alpha}_{S1}$ -casein pada kambing Kacang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Frekuensi genotip dan alel pada gen  $\text{Alpha}_{S1}$ -Casein

Alel Lokus CSN1S1					Genotipe CSN1S1		
<i>“High”</i>		E	F	O	<i>“High”</i>		
A	B				AA	AB	BB
0,77	0,23	-	-	-	0,67	0,2	0,13

Berdasarkan pada Tabel 4 dapat diketahui bahwa frekuensi genotipe hanya genotipe ekspresi tinggi *“high”* yang terdiri dari genotipe AA, AB dan BB yang

ditemukan. Nilai frekuensi AA lebih tinggi bila dibandingkan dengan nilai frekuensi AB dan BB. Kondisi ini tidak seperti penelitian Soares *et al.*, (2009) yang selain memperoleh genotipe ekspresi tinggi “*high*”, mendapatkan pula genotipe EE, FF dan alel yang lain.

Frekuensi alel yang diperoleh dari penelitian ini yaitu alel A (0,77) dan alel B (0,23). Alel A dan alel B yang didapatkan digolongkan ke dalam tingkatan alel tinggi “*high*”. Jumlah alel pada penelitian ini lebih sedikit dibandingkan alel yang ditemukan pada penelitian Soares *et al.*, (2009) yakni teridentifikasi beberapa alel yaitu alel E, F, O, “*high*” dan alel yang lain.

Tabel 4 menunjukkan frekuensi alel A dan B pada gen Alpha<sub>s1</sub>-Casein bersifat polimorfik sesuai dengan Nei (1987) yang mengatakan bahwa suatu alel dikatakan polimorfik jika memiliki frekuensi alel sama dengan atau kurang dari 0,99 dan yang dikatakan Indrawan dkk (2007) bahwa jumlah keragaman genetik dalam populasi ditentukan oleh banyaknya gen yang memiliki lebih dari satu alel (gen polimorfik), dan banyaknya alel pada setiap gen tersebut.

#### Nilai Heterozigositas

Hasil analisis nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) gen Alpha<sub>s1</sub>-Casein dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) Alpha<sub>s1</sub>-Casein

Heterozigositas Pengamatan ( $H_o$ )	Heterozigositas Harapan ( $H_e$ )
0,2000	0,3578

Berdasarkan data pada tabel 5 dapat dilihat bahwa nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) lebih rendah daripada nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ). Ini berarti bahwa keragaman genetik pada populasi kambing Kacang yang diteliti masih rendah karena kemungkinan terjadi *in breeding*. Hal ini seperti yang diperoleh Mastrangelo *et al.*, (2012), yang memperoleh nilai  $H_o$  lebih rendah dari nilai  $H_e$ . Menurut Tambasco *et al.*, (2003) perbedaan antara nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ) dapat dijadikan indikator adanya ketidakseimbangan genotipe pada populasi yang diamati. Ketidakseimbangan itu mengindikasikan seleksi alam atau seleksi buatan.



## PENUTUP

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa hasil karakterisasi gen  $\text{Alpha}_{\text{S1}}$ -Casein pada kambing Kacang terdapat dua tipe alel yaitu A dan B dimana alel tersebut digolongkan dalam kelompok kasein ekspresi tinggi “*high*” diasosiasikan yang mengontrol protein susu kambing Kacang dengan masing-masing frekuensi alel 0,77 dan 0,23 dan nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) lebih rendah dari heterozigositas harapan ( $H_e$ ) yang berarti keragaman genetik pada populasi rendah.

### Saran

Hal yang dilakukan untuk memperoleh alel yang beragam yaitu memperbanyak sampel kambing Kacang dan memperluas wilayah populasinya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, C. P., D. L. Pipalia, D. N. Rank, C. G. Joshi, B. P. Brahmkshtri, J. V. Solanki and R. R. Shah. 2002. BoLA-DRB3 gene polymorphism in jaffrabadi and mehsani buffaloes as revealed by PCR-RFLP. *Indian Veterinary Journal* 79: 652-656.
- Aditama, D. 2014. Keanekaragaman Gen Penyandi Alpha<sub>S1</sub>-Casein (CSN1S1) dari Genom Darah Kambing Peranakan Etawa (PE) di Jawa Tengah. Skripsi. Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Alyaqoubi, S., A. Abdullah, M. Samudi, N. Abdullah, Z. R. Addai and M. Al-Ghazali. Physicochemical properties and antioxidant activity of milk samples collection from five goat breeds in Malaysia. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 7 (4): 25-241.
- Ambrosoli, R., L. Stasio and P. Mazzocco. 1988. Content of alpha<sub>S1</sub>-casein and coagulation properties on goat milk. *Journal of Dairy Science*. 71: 24-28.
- Barendse, W., B. E. Harrison, R. J. Bunch and M. B. Thomas. 2008. Variation at the calpain 3 gene is associated with meat tenderness in Zebu and composite breeds of cattle. *BioMed Central Genetics*. 9(41): 1-8.
- Bevilacqua, S., P. Ferranti, G. Garro, C. Veltri, R. Lagonigro, C. Leroux, E. Pietrola, F. Addeo, F. Pilla, L. Chianesse and P. Martin. 2002. Interallelic recombination is probably responsible of the occurrence of a new  $\alpha$ S1-casein variant in the goat species. *European Journal of Biochemistry*. 269(4): 1293-1303.
- Boulanger, A., F. Grosclaude and M. F. Mahe. 1984. Polymorphism of caprine (*Capra hircus*) alpha<sub>S1</sub> and alpha<sub>S2</sub> casein. *Genetics Selection Evolution*. 16: 157-176.
- Brignon, G., M. F. Mahe and F. Grosclaude. 1989. Sequence of caprine  $\alpha$ S1-casein and characterization of those of its genetics variants which are synthesized at a high level,  $\alpha$ S1-Cn A, B and C. *Protein Sequences and Data Analysis*. 2: 181-188.
- Brignon, G., M. F. Mahe, and B. Ribardeau-Dumas. 1990. Two of the three genetic variants of goat  $\alpha$ S1-casein which are synthesized at a reduced level have an internal deletion possibly due to altered RNA splicing. *European Journal of Biochemistry*. 193: 237-241.

- Clark, S. and J. W. Sherbon. 2000. Alpha<sub>s1</sub>-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research*. 38: 123-134.
- Demeke, T and R. P. Adams. 1994. The Use of PCR-RAPD Analysis in Plant Taxonomy and Evolution. In : Griffin, H. G. and A. M. Griffin. Eds. *PCR Technology: Current Innovations*. Boca Raton. CRC Press, 21: 179 -191.
- Elrod, S. dan W. Stansfield. 2007. *Genetika*. Jakarta: Erlangga.
- Farrell, J. R., R. Jimenez-Flores and G. T. Bleck. 2004. Nomenclature of the proteins of cows milk-sixth revision. *Journal of Dairy Science*. 87: 1641-1674.
- Grosclaude, F., M. F. Mahe, G. Brignon, L. Stasio and R. Juenet. 1987. A Mendelian polymorphism underlying quantitative variation of goat  $\alpha$ s1-casein. *Genetics Selection Evolution*. 19: 399-412.
- Handoyo, Darmo dan Ari Rudiretna. 2001. *Prinsip Umum Dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction*. Pusat Studi Bioteknologi. Universitas Surabaya. Unitas. 9 (1).
- Indrawan, M., R. B. Primack dan J. Supriatna. 2007. *Biologi Konservasi*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Lien, S., K. Furst and Kisen GO. 2001. Characterization of three alpha S1 – casein alleles in the Norwegian Breed of Dairy goat. Department of Animal Science, Agricultural University of Norway.
- Maga, J. M., L. Cooper and R. E. Gebhard. 2012. Outpatient regional anesthesia for upper extremity surgery update distal to shoulder. *International Anesthesiology Clinics*. 50: 47-55.
- Martin, P., M. Ollivier-Bousquet, and F. Grosclaude. 1999. Genetic polymorphism of caseins: a tool to investigate casein micelle organization. *International Dairy Journal*. 9: 163–171.
- Mastrangelo, S., M. T. Sardina, M. Tolone and B. Portolano. 2012. Genetic polymorphism at the CSN1S1 gene in Girgentana dairy goat breed. *Animal Production Science*.
- McLean, D. M. 1987. Influence of milk protein variants on milk composition, yield, and cheese making properties. *Animal Genetics* 18: 100–102.

- Moioli, B., F. Pilla and C. Tripaldi. 1998. Detection of milk protein genetic polymorphism in order to improved dairy traits in sheep and goats. *Small Ruminant Research*. 27(3): 185-195.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Pustaka Wirausaha Muda dan USESE Foundation, Bogor.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evalutionery Genetics*. New York : Columbia University Press.
- Nei, M and S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York: Oxford University Press.
- Nicholas, F. W. 1996. *Introduction to Veterinary Genetics*. New York : Oxford University Press.
- Noor, R. R. 2008. *Genetika Ternak*. Ed ke-2. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Park, L. K., P. Moran, D. A. Dightman. 1995. A polymorphism in intron D of the chinook salmon growth hormone 2 gene. *Animal Genetics*, 26: 277-285.
- Perez, M. J., C. Leroux, A. S. Bonastre and P. Martin. 1994. Occurrence of a LINE sequence in the 3' UTR of the goat  $\alpha_{S1}$ -casein E-encoding allele associated with reduced protein synthesis level. *Gene*. 147(2): 179-187.
- Ramunno, L., G. Cosenza, M. Papalardo, N. Pastore, D. Gallo, P. Di Gregorio and P. Masina. 2000. Identification of the goat CSN1S1<sup>F</sup> allele by means of PCR-RFLP method. *Animal Genetics*. 31(5): 333-346.
- Ramunno, L., G. Cosenza, A. Rando, A. Pauciullo, R. Illario, D. Gallo, D. Bernardino and P. Masina. 2005. Comparative analysis of gene sequence of goat CSN1S1 F and N alleles and characterization of CSN1S1 transcript variants in mammary gland. *Gene*. 345: 289–299.
- Rando, A., L. Ramunno and P. Masina. 2000. Mutation in casein genes. *Zootecnica e Nutrizione Animale*. 26(3): 105-114.
- Rijnkels, M., P. M. Kooiman, H. A. Deboer and F. R. Pieper. 1997. Organization of the bovine casein gene locus. *Mammalian Genome* 8: 148 – 152.
- Sacchi, P., S. Chessa, E. Budelli, P. Bolla, G. Ceriotti, D. Soglia, R. Rasero, E. Cauvin and A. Caroli. 2005. Casein haplotype structure in five Italian goat breeds. *Journal of Dairy Science*. 88(4): 1561-1568.

- Soares, M. A. M., M.T. Rodrigues, G. P. Mognol, L. F. C. Ribeiro, J. L. C. Silva and R. M. C. Brancalhão. 2009. Polymorphism of alphaS1-casein in a dairy goat herd in the southeastern region of Brazil. *Revista Brasileira Zootecn.* 38: 1026–1032.
- Stemmer, A., P. Horst and A. V. Zorate. 1998. Analysis of economic viability of specialize milk production with dual purpose goats in small holder management system in Malaysia. *Animal Research and Development.* 47: 44-52.
- Suryanto, D. 2003. Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler. USU digital library.
- Susilorini, T. E dan S. Maylinda. 2013. Teknologi Marka Gen  $\alpha$ 1-casein sebagai Metode Seleksi Bibit Unggul Kambing Perah Peranakan Etawa (PE). Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Sutarno. 1999. Polimorfisme DNA Mitokondria dari Berbagai Jenis Sapi Pedaging di Western Australia dan Bali. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Szatankooova, Z., V. Matlava and G. Mala. 2007. Genetic polymorphism at the CSN1S1 gene in two Czech goat breeds. *Czech Journal of Animal Science.* 52(7): 199-202.
- Tambasco, D. D., C. C. P. Paz, M. Tambasco-Studart, A. P. Pereira, M. M. Alencar, A. Freitas, L. L. Countinho, I. Packer and L. Regitano. 2003. Candidate genes for growth traits in beef cattle Bos Taurus x Bos Indicus. *Journal Animal Breeding Genetics.* 120: 51-60
- Threadgill, D. W and J. E. Womack. 1990. Genomic analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Research* 18(23): 6935-6942.
- Van der Warf J. 2000. An overview of animal breeding programs. Di dalam : Kinghorn B, Van der Werf J, editor. *QTL course : Identifying and Incorporating Genetic Markers and Major Genes in Animal Breeding Programs.* Armidale, Australia : University of New England.
- Wulandari, A. R. 2008. Studi tentang keragaman genetik melalui polimorfisme protein darah dan putih telur pada tiga jenis ayam kedu periode “layer”. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Dipenogoro. Semarang.
- Yeh FC, Yang RC, and Boyle T. 1999. *POPGENE version 1.31* : Microsoft Window-based freeware for population Genetic Analysis. Edmonton, AB. Canada : University of Alberta Canada.

Yusuf, Z. K. 2010. Polymerase Chain Reaction. Universitas Negeri Gorontalo.  
Sains Teknologi. 5(6): 1-6.

## Lampiran 1. Analisis Genetik Populasi

```
*****
*
*      POPULATION GENETIC ANALYSIS      *
*
*****
```

Date : 2015/7/29

Time : 16:45:37

Data Description : Test Data Set I: Haploid

```
*****
**
**      Single-Population Descriptive Statistics      **
**
*****
population ID : 1
population name : none
```

\* Population : 1 @ Locus : csn1s1 \*

Genotypes	Obs. (O)	Exp. (E)	(O-E) <sup>2</sup> /E	2*O*Ln(O/E)
(1, 1)	20	17.5424	0.3443	5.2445
(2, 1)	6	10.9153	2.2134	-7.1808
(2, 2)	4	1.5424	3.9160	7.6238

Allele Frequency of population 1 :

Allele \ Locus      csn1s1

Allele 1            0.7667

Allele 2            0.2333

# Summary Statistics of population 1 :

```

*****
**
**      Summary of Heterozygosity Statistics for All Loci      **
**
*****

```

Locus	Sample Size	Obs_Het	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
csn1s1	60	0.2000	0.3638	0.3578	0.3578
Mean	60	0.2000	0.3638	0.3578	0.3578
St. Dev		0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

\* Expected homozygosity and heterozygosity were computed using Levene (1949)

\*\* Nei's (1973) expected heterozygosity



## Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Pengambilan Sampel Darah



Koleksi Sampel Darah



Bahan Estraksi DNA



Ekstraksi DNA





Bahan PCR

Alat Elektroforesis



Centrifuge



Waterbath Shaker



Gel Dokumentasi



Mesin PCR



## RIWAYAT HIDUP



**MAGFIRAH NUR**, lahir di Soppeng pada tanggal 29 September 1992 dari pasangan H. Tahir dan Hj. Nurhayati, S.Pd merupakan anak ke dua dari dua bersaudara. Penulis menyelesaikan Pendidikan Taman Kanak-Kanak Pertiwi pada tahun 1999. Kemudian melanjutkan ke tingkat Sekolah Dasar Negeri 3 Lemba selesai pada tahun 2005 dan

melanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Watansoppeng yang tamat pada tahun 2008. Penulis melanjutkan ke Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Watansoppeng dan tamat tahun 2011. Pada tahun yang sama pula, penulis melanjutkan pendidikan ke Perguruan Tinggi Negeri dan lulus melalui Jalur Undangan di Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

